



TITLE:

# 昆虫の体内時計

AUTHOR(S):

宇尾, 淳子

---

CITATION:

宇尾, 淳子. 昆虫の体内時計. 防虫科学 1968, 33(3): 95-117

ISSUE DATE:

1968-08-31

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/158543>

RIGHT:

## Summary

1. Allethrin and phthalthrin were applied topically to the adult house flies in combination with one of the following synergists at a ratio of 1:10; piperonyl butoxide, S-421, *n*-propyl isome, sulfoxide, safroxan, and MGK-264. The LD<sub>50</sub> values evaluated at 24 hrs after treatment showed that S-421 was the most effective synergist for allethrin, whereas piperonyl butoxide for phthalthrin.

2. The radioactivities of <sup>3</sup>H-labeled allethrin and phthalthrin on the cuticular surface, in the body, and in the excreta were measured at regular intervals after the treatment. In all cases the radioactivity recovered in the excreta decreased, whereas that in the body and on the cuticular surface increased when the pyrethroids were applied with synergists. Synergists probably caused the depression of the permeability of pyrethroids through the integument of the house flies.

3. Five compounds were detected as metabo-

lites of both pyrethroids by paper chromatography. The decomposition of the pyrethroids was depressed by the addition of synergists. It may be suggested that the inhibition of the decomposition of the pyrethroids in insects is one of synergistic mechanisms of synergists.

## References cited

- Bridges, P. M.: *Biochem. J.* 66, 316~320, (1957).  
 Bray, G. A.: *Analyt. Biochem.* 1, 279~285 (1960).  
 Chang, S. C., et al.: *J. Econ. Entomol.* 57, 397~404 (1964).  
 Hopkins, T. L., et al.: *J. Econ. Entomol.* 50, 684~687 (1957).  
 Hayashi, A.: *Jap. Soc. Appl. Ent. and Zool.* 6, 76~77, (1962).  
 Incho, H. H. et al.: *Soap and Chem. Specialties.* 38(8), 69~72, 173~175 (1962).  
 Yasutomi, K.: *Jap. J. Sanit. Zool.* 11, 36~41 (1960).  
 Yamamoto, I. and J. E. Casida: *J. Econ. Entomol.* 59, 1542~1543 (1966).  
 Winteringham, F. D. W.: *Biochem. J.* 61, 359~367 (1955).

## 綜 説

**Central Nervous System Control of Circadian Rhythmicity in Insect.** Junko Nishiitsutsuji-Uwo (Department of Agricultural Chemicals, Shionogi & Co., Ltd., Doshomachi, Osaka)  
 昆虫の体内時計. 宇尾淳子 (塩野義製薬株式会社・植物薬品部)

## はじめに

生体を取りかこむ環境は、その変化においてめざましい程周期的である。周期性は主として地球の自転や公転、又月の公転に起因している。そしてこれらの日々の、月々の、年間の“時”というものが、生体に対して何等かの影響を与えている。

遠く1729年に、フランスの地質学者 De Mairan は或種の植物の葉が、昼と夜とで上ったり、下ったりする運動を日々繰返すことに興味をもった。そこで彼はオジギソウ *Mimosa* を洞くつの中に入れて、日々の光や温度のサイクルから遮断してみたところ、おどろくべきことに、やはりこの葉は日々の上下運動を繰り返すことを発見した。この現象は19世紀の植物学者によって詳しく追究せられ、同じ世紀の後半においてすでに、日々の光の周期は植物のもっているどの様な種類の周期性をもひき起こす原因ではなくて、単に他の

原因によって内部に生じでる周期性の“timing”をcontrolするに過ぎないことが明らかにされた。すなわち De Mairan の現象は完全に内因的であって、外因的な原因によって生ずるのではないことが、現在迄に数多くの研究者によって証明されている。近年 Franz Halberg は De Mairan の oscillation を“circadian” —ラテン語 circa, dies 約1日の意— という用語で現わすことを提案した。この用語は生物のもつ oscillation の周期と、地球の自転—正確に24時間—との間の区別を理論的に強調すると共に、昼行性, diurnal (又は夜行性, nocturnal) という用語—各生物にある固有の遺伝的性質としてのニュアンスをもつ—のもつ不明瞭さと矛盾とを補っている<sup>24)</sup>。

現在 De Mairan の現象はおどろく程多種類の生物で観察されている。すなわち、単細胞生物、多細胞生物、もちろん人間も含めて、この地球という遊星の上に住むあらゆる生きとし生けるものの生理機構の一般

像といえる。しかもこの現象は個々の生物体全体としての行動のみならず、細胞の、はては細胞以下のレベルにおいてさえ認められるというデータが日々累積されている。

今、或一つの多細胞生物を仮定してみよう。この生物は、多分血中のグリコーゲンの消長も、体温も、種々のホルモン作用も、或組織の細胞分裂の周期も circadian oscillation をもつであろう。同時に、各組織細胞における各種酵素の活性度にも circadian のレベルでの消長があり、しかもこれらすべての circadian oscillation が必ずしも同一の phase でもって行なわれているとは限らないにも拘らず、生物体全体としては調和のとれた circadian リズムのある行動を示すであろう。そこで、この多細胞生物には特殊な場所に“特殊な細胞（群）”が存在していて、これが pace-maker すなわち、driver として働いているのではないかという疑問が生じてくる。言いかえると、生物体のどこかに“時計”があって、この時計から方々に命令が伝えられるのではないかという仮説がもうけられる。

生体の中にも時計があるとすればそれは一体体のどこにあるのかを探究する研究が、circadian rhythmicity の研究の一つの重要な分野として、ここ10年余り前から始められた。飼育・生理条件・外科的手段の安易さ等の理由から、多くの研究者は実験材料として昆虫を用いているが、一般に支持データの不足、それに対する考察・観察の不充分、飼育・記録器具の不適当さや貧困さ、用いた用語の不統一による混乱等の理由から、過去に発表された論文のうち、引用に足るものはごく僅かにすぎないし、それ等でさえ、複雑な時計の仕組みのごく一部分をみにすぎない。これから述べる昆虫の体内時計の話は、筆者がアメリカのプリンストン大学で行なった研究の総まとめである。

#### 実験材料と装置

実験材料として、昆虫のゴキブリの2種類、*Leucophaea maderae* と *Periplaneta americana* がえらばれた。何代にも亘って、研究室で飼育されたものである。ゴキブリは夜行性の昆虫であって、昼間はひそんでいて、夜になると活動を開始する。成虫になったばかりのゴキブリの雄を1匹ずつナイロン mesh をはった monitored activity wheel (15cm の直径、5cm の深さ) にいれて、これに固形飼料と水を中心にするしておく。この wheel 全体を大きい箱にいれガス交換・温度調節 ( $25^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ) をほどこし、同時に箱の内部に蛍光灯を置いて、任意の時間照明出来る様に timer につなぐ。wheel はゴキブリが中で一歩でも前又は後に踏み出すと回転し、これが電源のリレー

とつながって、外のレコーダーに何日の何時何分に wheel が動いたかが自動的に記録される<sup>(28)(29)</sup>。まず24時間のうち照明 (L) 12時間：非照明 (D) 12時間にしておくと、ゴキブリは照明が消えた (D) 直後から行動を開始し、数時間活潑に行動した後、徐々に行動が不活潑になり、明りがつく (L) と、その行動は極度に不活潑になる。今、仮りに一定の LD: 12-12時間の条件におくとこのゴキブリは正確に24時間の周期をもつ活動のリズムを繰り返す (entrainment)。次に一日中暗黒 (DD) 又は一日中照明 (LL) の条件に変えても、ゴキブリは日々の活動の周期性を失わない。但し、この場合或ゴキブリは23時間30分で毎日行動を開始するし、或ものは24時間15分でそれを開始する。従って長期間記録をとると、外からの光の cycle がない場合には、或ゴキブリの時計は毎日少し進み、或ものは少し遅れる。この様に光の条件を一定にした場合 (DD 又は LL) に示す行動のリズムを“free running”リズムとよんでいる(第1図参照)。すなわち、外界の光

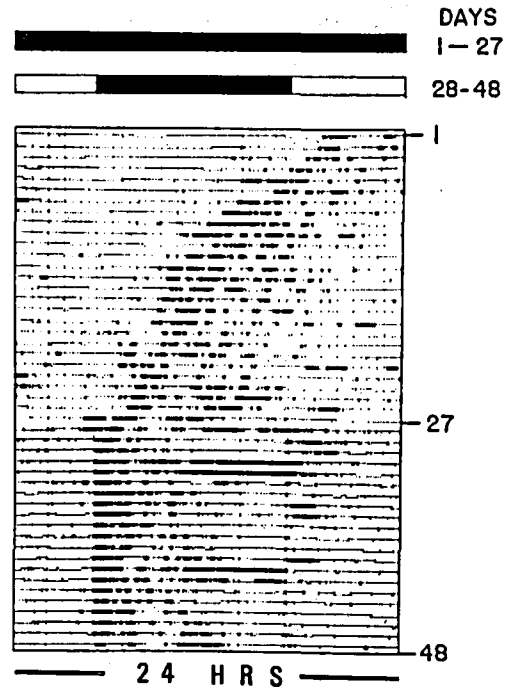


Fig 1. Entrainment of the activity rhythm of a single *Leucophaea* by a LD 12:12 following a free-run in DD. The average period of the rhythm in DD from day 1-27 is estimated to be 23.5 hours. Subsequently the rhythm is entrained to a 24-hour period (day 28-48) by the LD cycle. The position of the light and dark fractions of the LD regime is indicated at the top of the figure: black and white bands denote dark and light respectively. From Roberts (1962).

の cycle (夜・昼等) はゴキブリのもっている時計の “timing” を調整するにすぎない。

### I 眼の役割<sup>21)</sup>

光の周期が circadian rhythm を調整するならば、光の情報はゴキブリの体の或部分を通して内部の時計 (driving oscillator) に送られるはずである。過去においてすでに、同じ種のゴキブリを使って光の通路に関する3つの互いに矛盾した論文が発表されている。まず Cloudsley-Thompson<sup>4)</sup> は支持データなしに、複眼, compound eyes と単眼, dorsal ocelli の両方ともゴキブリの circadian リズムに関係があると述べ、ついで Harker<sup>9)</sup> は entrainment のための光受容器, photoreceptor としては単眼が関与していて、複眼は関係ないと述べた。これに反して Roberts<sup>30)</sup> は複眼こそが重要な受容器であると反ばくした。一方、Lees<sup>17)</sup> はアリマキでは光周性受容器 (有性・単為生殖による雌の発生に関する) は前大脳, protocerebrum 中の脳間部, pars intercerberalis (PIC と略) に局在していて、複眼を破壊しても光周性誘導は変りないと述べている。光周性誘導は circadian oscillation によって仲介されているから<sup>31,28)</sup> Lees の言う可能性—光受容器は PIC にある—も又無視できない。

この問題の解決のために、2つの主な方法がとられた。1つは眼又は頭部をペイントする方法であり、他は外科的に単眼を除去したり、複眼の視神経を切断したりする方法である。眼をペンキでぬる方法には予期せぬ困難が多い。例えば、ペンキは極度にはがれ易い (1~2日は密着しているが、ゴキブリが触角を動かす度にすれて、徐々に部分的にはがれてゆくことが多いために、長期間の観察には不適當である)。これはゴキブリの複眼の位置と形態が特殊であることに負う点が多い (第2図参照)。一方、ほどこしたペンキ層の或部分に小さい孔がないとも限らない。その上、こうした欠点の少ない或種のペンキを用いたとしても、それが虫にとって有害なことが多い。これらの多くの欠陥にも拘らず、上述した3つの論文の矛盾の解決のためにも、まずペイントの方法を追試せざるを得なかった。後から考えてみると、矛盾した結果はペンキの欠点のいくつかに由来したものであると思われる。

### ペイントの方法

我々が試みたペンキの種類や方法は30種類以上にのぼる。そのうち、3つの方法だけが比較的満足すべき結果を与えた。次に列挙しよう。

(1) Epoxy (Devcon) + bee's wax + charcoal

まず Epoxy を clean base 1 : 硬化剤 1 : 活性炭 1

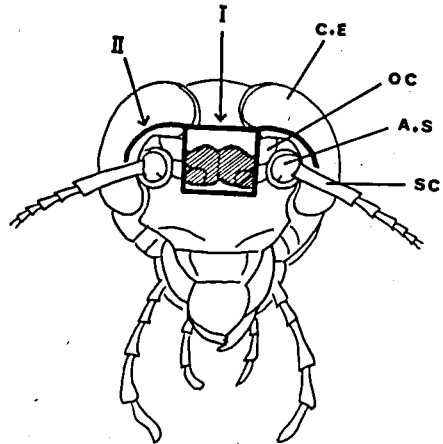


Fig 2a. A diagrammatic representation of the head of a cockroach showing the area cut (thick line) on the head capsule. The first cut (I) was performed by making a ~1.5 mm x 1.5 mm square “window”. The piece of integument was removed and replaced after the operation.

The second cut (II), if necessary, was bilaterally extended from the upper edge of the window through the compound eye to the antennal socket. C. E, compound eye; OC, ocellar fenestra; A. S, antennal sclerite; SC, scape. See text.

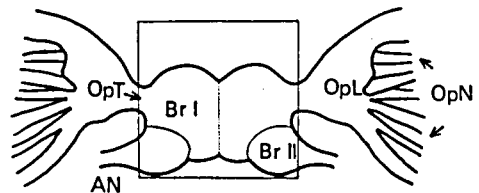


Fig. 2b. Frontal view of the brain showing the position of the window. Br I: Protocerebrum, Br II: deutocerebrum, OpT: optic tract, OpL: optic lobe, OpN: optic nerve, AN: antennal nerve.

の割合に混ぜて目的とする部分に約 1 mm の厚さにぬる。その上をとかした蜜ろうに活性炭をまぜたもので上塗りする。

(2) Model airplane lacquer + bee's wax + charcoal

目的とする場所を模型行機用ラッカー (木製用) で 2~3 度ぬり、その上を (1) と同じく活性炭をまぜた蜜ろうでカバーする。

(3) Opaquing fluid (Dietzgen 2704—16) + bee's wax + charcoal

ラッカーの代りに写真の原板修正用の黒インキを用いる。その他は (2) に同じ。

これらのうち、Epoxy とラッカーは毒性効果を幾分もつようである。(3)の墨はその点はいくつか密着度が

劣る。さて、このように2重にカバーすると、その部分では光は遮断されるが、この様な厚さのものを、複雑な形態をもつ複眼にのみ完全にほどし、他の部分を全くフリーにすることはほとんど不可能に近い、又、口器の部分を除く頭全体を覆った場合には、ゴキブリはまるで鉄仮面の様な頭になり、異常な迄の重荷が頭部にかかるのも欠点である。

### 外科的方法

ペイントに比して、外科的手段ははるかに安易で且つ確実である。ここで頭部の外科的方法一般について述べてみよう。まずゴキブリを activity wheel のまま  $\text{CO}_2$  麻酔して取り出し、 $7 \times 20 \times 2.5$  (高さ) cm の大きさのプラスチックの箱の身の底につくったV型の切口 (頭の2倍位の大きさ) から、頸をつる様な形で、頭だけを箱の外に出し、体はテープで箱の内側から固定する。V型の穴から外に出ている頭部は、触角の根本で外からテープで固定する。ついで箱を双眼顕微鏡下にある可動手術台に取りつけ、箱の中に  $\text{CO}_2$  を通す。手術室は  $25^\circ\text{C}$  に保たれているが、 $\text{CO}_2$  による温度の変化が直接ゴキブリに働くのをさけるために、 $\text{CO}_2$  のパイプは  $25^\circ\text{C}$  の温水槽を通して出てくるように工夫してある。

手術の前にゴキブリの頭部と手術器具を70%アルコールで消毒する。手術道具の主なものにはナイフとピンセットで、ナイフはひげそり用両刃を適当な角度 (約  $15^\circ \sim 20^\circ$ ) をもつように折って、それを棒状のholderに固定したものであり、ピンセットは micro-surgery 用の一番先の細いもので、手術前に必ず顕微鏡下で磨いておく。まづ、第2図aの太線Iの位置で皮膚のみをナイフで四角に切りとり、この四角の皮膚を保存しておく。ついで皮膚の下の tracheae と脂肪組織とを、脳を傷つけないようにピンセットで取り除くと、第2図bに見られるように前大脳 protocerebrum (brain I → Br. I と略す) と中大脳 deutocerebrum (Br. II) の大部分が血中に浮かんで露出される。ナイフの刃をかえて後述するような脳の各部の手術を行ない、保存しておいた窓型の皮膚をもとに戻してここを少量の歯科用パラフィンで封じる。複眼の視神経, optic nerve (OpN と略) を切断する場合には、第2図aのIIの太線で示したように、窓型の切口のはしから更に触角の基部に添って複眼の上を半廻りするほど切り込み、窓とこの第2の切り込みとの間にできた三角形の皮膚を一方のピンセットでつまみ上げ、他方のピンセットで複眼の個眼, ommatidia と視葉, optic lobe (OpL と略) との間で OpN を全部切断した。ついで、もち上げていた皮膚を元の位置に戻し、更に窓型の皮膚も元通りにしておいて、全切り口を封じた。光の脳への

直接の影響をみるためには、窓型の皮膚の代りに同じ大きさのカバーガラスを代用し、ガラスの一部をペイントして適当な大きさの窓を残した。単眼の手術はこれに準じたが、単眼全体を除去した。複眼の OpN を切断しても単眼は intact であり、その逆もまた同様である。勿論脳のどの部分も傷つけることはない。手術後ゴキブリを再びもとの activity wheel に戻して、手術前と同様の条件においた。

眼の役割をしらべるこの一連の実験には全部 *Leucophaea* を用いた。 *Periplaneta* では皮膚の代りにガラスの窓をおいた場合、1~2日のうちに色素のついた皮膚が切口からガラスの下にそって再生して、ガラスの窓を下からすっかり覆ってしまうが *Leucophaea* では1カ月たっても、めったに再生が起こらない、光の脳への直接の影響をしらべるのも大きい目的の1つであったため、*Periplaneta* は不適当な材料と見なした。

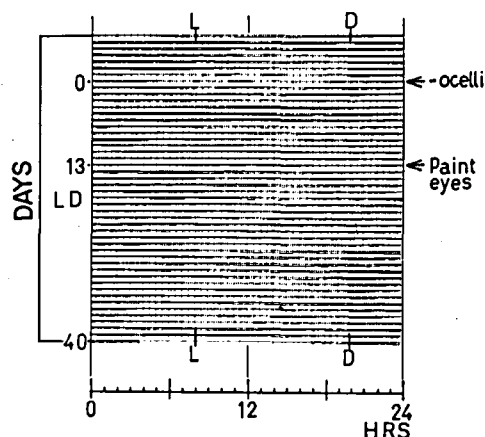


Fig. 3. Persistence of the activity rhythm following ablation of the ocelli (day 0) and painting of the compound eyes on day 13 (I-1, I-2). L, light; D, darkness.

### I-1) Ablation of both ocelli. (10例)

例外なしに、手術後直ちに一平均1日の arrhythmia があるが一リズムがもどってくる (第3図)。Harker<sup>9)</sup> は *Periplaneta* では単眼が外界の光のサイクルによるリズムの確立 (entrainment) と直接に関係があって複眼はこれに関与しないといっているが、Roberts<sup>30)</sup> が同じ種で単眼の必要性を否定し、今この *Leucophaea* を用いた実験からも、明らかに単眼は entrainment に必要とはいえない結論に達した。

### I-2) Ablation of both ocelli and painting compound eyes. (9例)

9匹中1匹は永久に (2カ月以上) arrhythmic に止

った。これは後述する脳の手術の実験から推測して、ペンキが眼を通して直接脳に迄も有毒な影響を与えたものらしい2匹はペイント後、LDの条件下で、“free running”のリズムを示した。これが可決なら、ペンキは明らかに光→driving oscillator への正常な通路を遮断したことになるが、残り6匹は正常なリズムを取りもどしている可決(第2図)に対する解釈がむづかしい。光は不完全な(?)ペンキの小孔を通してdriving oscillatorに入ったのであろうか?

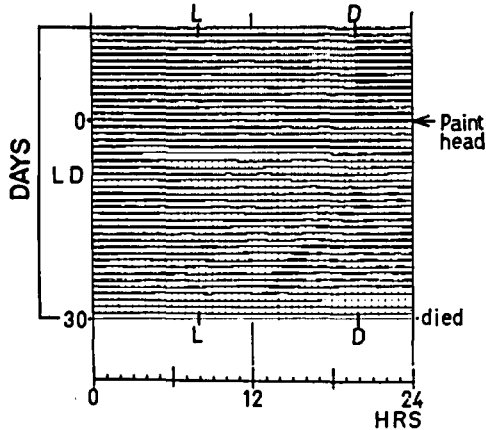


Fig. 4. A free running rhythm in LD (12 hours light, 12 hours dark) following painting of the entire head, except the mouth appendages, up to the basal segment of the antennae (I-3).

#### I-3) Painting the entire head. (13例)

口器を除く全頭部を、触角の最基部節、scapeに至る迄ペンキで厚く覆った場合には、2匹の arrhythmic

のものを除いて、11匹中3匹のみが entrain されたのみで、残りの8匹は free running リズムを示した。この結果から考えるともしペイントが完全であれば、頭部全体をペイントすれば free running リズムを示すらしく、Robertsの結果とよく一致する。この結果から考えて、I-2)の複眼のみのペイントの場合 entrain した率が高いのは、ペイントの不完全という可能性の他に、光が眼以外の頭部の或部分を通して吸収された可能性も考慮されなければならない(第4図)。

#### I-4) Painting the entire head with insertion of a glass window over Br I. (7例)

7匹中4匹が entrain した。entrainment の率は小さいがそれでも3)の場合(3/11)よりも増しているのは、光(ガラス窓の上で0.5~2.0 foot-candle)が窓を通して吸収される可能性を示している。

#### I-5) Peeling the paint from the left antennal socket. (6例)

ゴキブリの頭部は茶褐色の色素を含んだ固い皮膚で被われている。今仮りに、光が眼以外のところから入るとすれば、頭部で透明な薄い膜で覆われた部分は触角の基部(antennal socket)のみであるから、ここから光が入ると考えざるを得ない。そこでI-3)から4匹、-2)から2匹の free run している虫をえらんで、左の触角の基部でペンキを一部分のみはがしたところ、6匹中4匹は2週間位かかって徐々に entrain した(第5図)。この結果は、光の一部分は触角の基部の薄膜を通して吸収されることを示している。しかし乍ら、ペイントの実験のみでは、余りにも多くの問題点があって決定的な結論を導き出すことはむづかしい。

Table 1. Effects of ablation of the ocelli and of painting over the compound eyes on the circadian locomotory rhythm in cockroaches.

Exp. Groups	Experimental Procedure	No. of Animals	Post-operative Rhythm in LD		
			No. Entrained ( ) days*	Free Run	No Rhythm
I-1	- Ocelli	10	10(1)	0	0
I-2	- Ocelli, paint C.E.	9	6(4)	2	1
I-3	Paint head	13	3(8)	8	2
I-4	Paint head inset window	7	4(4)	3	0
I-5	Peel paint from ant. socket	6	4	2	0

\* average number of days until animals were entrained post-operatively

-: removal

C.E.: compound eyes

LD: 12 hours light-12 hours dark

ant: antennal

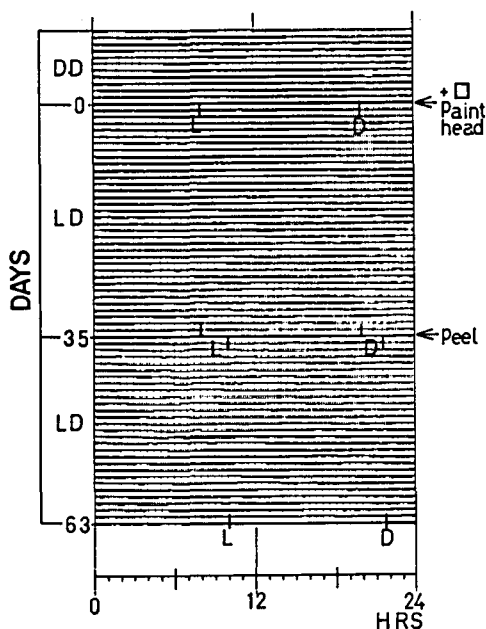


Fig. 5. On day 0, a glass window was set just above the protocerebrum and the whole head was painted over. This animal showed a free running rhythm in spite of having a glass window (I-4). On day 35, the paint was peeled from the left antennal socket, and the animal was then slowly entrained (I-5).

#### I-6), I-7) Unilateral and bilateral section of the optic nerves. (20例)

今1側のOpNだけを全部切断すると、手術前のリズムを10日以内にとりもどす(I-6)。ところが、両側のOpNを切断すると、17匹中14匹がLD条件下でfree runningリズムを示した(I-7)。3匹はentrainmentをつづけたが、解剖の結果3匹中2匹は1側のOpNのうちの2~3の神経せんいが切断されていないことが分った。この2匹を除くと、18匹中実に17匹がfree runしたことになる(第6図)。ここで再び強調しておきたいことは、この種の手術では単眼はintactであった点で、ここで使った限りの光の条件下では、単眼は光受容の役割をしていないことが分る。

#### I-8) Bilateral section of the optic nerves with insertion of a glass window over Br I. (6例)

例外なしに、LD条件下でfree runningリズムを示した。光を強くしても(2→8 foot candle) entrainしない。

さて、これら一連の実験から、次の結論に達せざるを得ない。すなわち、光は複眼の個眼で吸収され視神

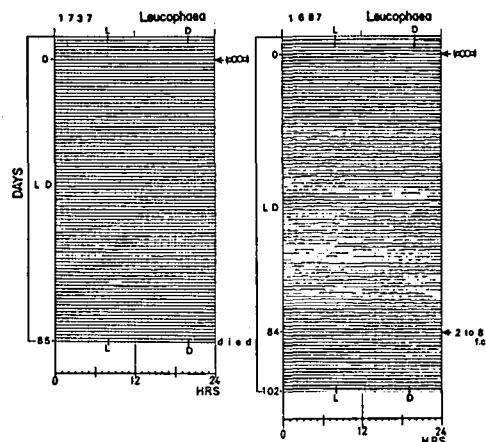


Fig. 6. Two examples of a free running rhythm in LD: (12 hours light-12 hours dark) following bilateral section of the optic nerves between the optic lobe and ommatidia of the compound eyes on day 0 (I-7). Animal 1737 died 85 days after operation. Animal 1678 continued his free running rhythm. On day 84 the light intensity was increased from 2 to 8 f.c.

経を通じて脳の方にその情報が送られる。バイパスとして多分触角のsocketから少量の光が入って個眼に達する。しかしながらわれわれの使った光度では、光が直接br.Iに吸収されるというLees<sup>17)</sup>の魅力的な説を立証することはできなかった(Leesはアリマキで50 ft.candleの照射をしている)。

前述したCloudsley-Thompson<sup>18)</sup>は、頭部にペイントやら手術を行なった場合に起こるtraumaによる一時的なarrhythmiaをみて、早急に結論を下して、複眼・単眼共のいづれをこわしてもリズムがなくなると考えたものと思われる。もっとも彼の報告は一切の支持データなしに行なわれているが。

事実、或種の頭部の手術後にみられるarrhythmiaよりも、ペイント後のそれは一般に長くつづく(4~8日)。これはペイントが単に機械的影響を与えた以上に、もっと毒性効果を脳に与えたことを意味している。実験終了後、すべてのゴキブリのペンキをはがしてみたところ、5~6匹の例では、ペンキで被われた部分の眼の色素が完全に消失していた。

ここでもう一度複眼の役割について考えてみよう。外界の光の周期の情報は複眼の個眼から視神経を経て脳の方に伝えられ、リズムは外界の光の条件に調整される。しかしいうまでもなく、これはゴキブリのもつ時計そのものではなく、単にその時計の正確な時間をきめる役割をもつに過ぎない。すなわち、複眼は光に対する“resetting system of the biological clock”

Table 2. Effects of section of optic nerves on the circadian locomotory rhythm in cockroaches.

Experimental Groups	Experimental Procedure	No. of Animals	Postoperative Observations				
			Days of Observation	Activity Level	Rhythm in LD	Days until Reappearance of Rhythm	Animals' State at end of Experiment
I-6	cut Op. N. unilateral	3	27(19-30)	Normal 3	Normal 3*	6 (0-10)	+ 3
I-7	cut Op. N. bilateral	17	94(18-312)	Normal 15 Higher 2	Normal 3 Free-Run 14	13 (6-19) 6 (0-15)	+13 - 4
I-8	cut Op. N. + window	6	77(43-173)	Normal 6	Free-Run 6	5 (0-15)	+ 6

Op. N.: optic nerve. + window: set window above the brain (see text)

\*2 animals were kept in constant light, hence, normal means that animals continued their pre-operative freerunning rhythm post-operatively.

と考えることができる。

## II. Pars intercerebralis (PIC) の役割<sup>20)</sup>

複眼がゴキブリの体内時計の光による resetting を行なうものであるなら、一体時計そのものはどこにあるのであろうか、体内時計があるとすればそれは頭にあるのでないかと考えるのは、もっとも常識的である。事実、1956年に Eidman<sup>9)</sup> が *Carausius morosus* で、Harker<sup>9)</sup> が *Periplaneta americana* で断頭するとそれ迄にもっていた運動のリズムが消失したと報告している。昆虫の頭部にある主な器官としては複眼・単眼の他に frontal ganglion, 脳, 側心体, アラタ体, 喉下神経球等があげられる。このうち、側心体またはアラタ体, またはその両者とも circadian locomotory rhythm とは関係がないらしい (Fingerman *et al.*<sup>7)</sup>, Roberts<sup>31)</sup>, Brady<sup>11)</sup>, 筆者未発表データ)。一方、脳はリズムと直接または間接に関係があるというたくさんさんのデータがみられる。例えば、Dupont-Raabe<sup>5)</sup> や Mothes<sup>18)</sup> はオサムシの一種 *Carabus morosus* で脳が color change の日々のサイクルを内分泌的に control していると述べ、Klug<sup>16)</sup> や Rensing<sup>26, 27)</sup> は *Carabus nemoralis* や *Drosophila melanogaster* で脳にある神経分泌物質をかこむ細胞数や側心体の細胞の核の大きさ等が、日々のサイクルを示すといっている。ゴキブリの側心体は脳の神経分泌物質の貯蔵場所として知られているが<sup>32)</sup>, 側心体の抽出物は分離された nerve cords の electrical activity を *in vitro* の条件下で低下させる役割をもっているという<sup>23)</sup>。事実、Eidman<sup>9)</sup> は *Carausius* で Br. I の脳間部 (PIC) を除去すると、日々の運動のリズムがなくなったという先駆的な実験を行なっている。もっとも、彼の手術後の観察は24時間だけであって、リズムがなくなったのが果して脳外科による一時的な arrhythmia であ

ったのかどうかは知る術もない。一方、Roberts<sup>31)</sup> は *Periplaneta* で Br. I を左右両半球で分けるように切断 (mid-sagittal bisection) するとリズムがなくなるから、PIC にある神経分泌細胞がリズムに関係があると結論を下している。後に述べるように Roberts の結果からみちびき出された結論には難点があって、そのままでは受け入れ難い。すでに述べたように、Lees<sup>17)</sup> はアリマキ、*Megoura viciae* を使ったのすぐれた実験から、光受容器は Br. I にあり、それは PIC にある神経分泌細胞らしいと述べているが、光による circadian oscillation の entrainment の観点から光周性誘導を考えるなら<sup>3, 25)</sup>, Lees の発見は大きい意味をもっているように思われる。

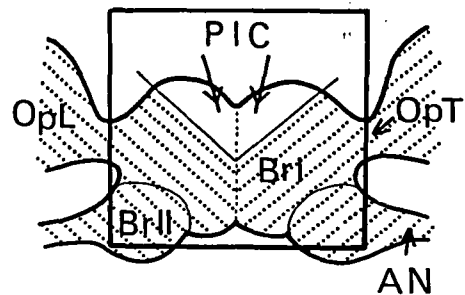


Fig. 7. Frontal view of the brain under the window illustrating the removal of the part of the brain containing the pars intercerebralis (white area). PIC: pars intercerebralis, Br. I: protocerebrum, Br. II: deutocerebrum, OpL: optic lobe, OpT: optic tract, AN: antennal nerve.

## II-1) Effect of the removal of the pars intercerebralis.

そこで、昆虫の脳の中で最も重要な部分である PIC、特にそこにある神経細胞群に焦点を合わせて、この部



分の除去実験を行なった。まづ, electric microneedle によるこの部分の焼却実験を試みたが, PIC を完全に焼き切るとその周辺部迄も大きく損傷をうけ, 満足できるテクニックを確立するに至らなかった。従って, この実験は全部外科的な切断除去法によることにした(第7図)。

手術方法として, まづ四角い窓型に皮膚を切りとることはすでに述べた(第2図参照)。第1脳を充分露出しておいて, 新しいナイフで第7図のごとく両側から斜めに切り込みをいれて, PIC をピンセットですくい出して除去する。切口は側方・中央神経細胞群を全部ふくみ, かつ, 両半球を切り離さないように注意する。何分, 脳は柔かい羊かん状の感じの構造であるために, この部分だけの外科的除去法もまた, 満足できるほど完全なものでない。従って, 手術の際に“完全”“不完全”除去のメモをつけると共に, 手術後十分の観察を行なった後にそのゴキブリを殺し, 脳を固定して5 $\mu$ の切片としてアルデヒド・フクシン・アザン法で染色して<sup>8)</sup>観察した。結果は第3表にみられる通

Table 3. Effect of ablation of the pars intercerebralis on the circadian locomotory rhythm in 45 operated cockroaches. Activity Level: Lower or Higher as compared to pre-operative normal level.

Experimental Group	II-1-a	II-1-b
Post-operative Rhythm	No Rhythm	Rhythm
No. of Animals	19*	28*
Days of Post-operative Observation	35(14-78)	29(10-60)
Days until Post-operative Appearance of Rhythm	—	9(0-24)
<b>Activity Level</b>		
Normal	6	12
Lower	0	1
Higher	13	9
Lower then higher	0	6
<b>Neurosecretory Cells</b>		
Present	—	11
Absent	3	8
Questionable	—	3

\* Of 19 animals in Group II-1-a, 3 animals showed a funny activity pattern and of 28 animals in Group-b, 8 animals showed a rhythm but not quite a normal rhythm (see text).

りである。

さて, 47匹手術した中で, 19匹は手術後リズムを示さなかったが, 残り28匹は何等かのリズムを回復した。II-1-a) No rhythm post-operatively (19例)

19匹は手術後完全にリズムを失なった。平均観察日数は35日間(14~78日)で, このうち3匹は3週間以内に殺すか, または死亡している。3週間というのは, 観察期間としては必要最短期である。というのは, 3週間 arrhythmic な状態を示してから, 再びリズムを取り戻す例が稀にみられるためである。従って, リズムを回復しない場合は, なるべく長期間の観察を行なうようにしたために, その間徐々に死亡してゆき, 脳の組織学的検討例が少なくなってしまった。組織をしらべたのは僅か3例のみであるが, いずれも PIC の

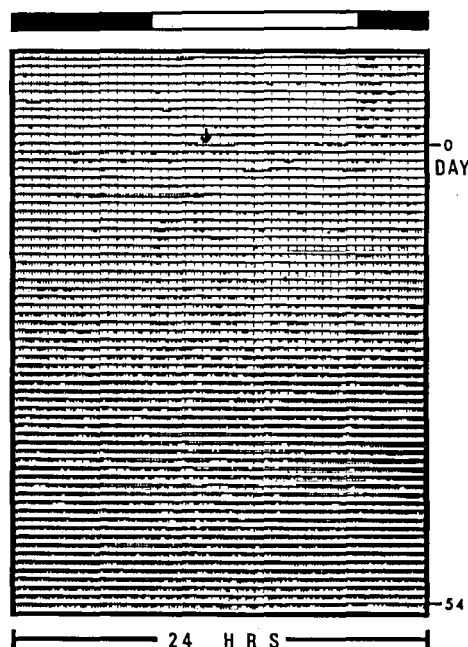


Fig. 8. Loss of the activity rhythm in *Leucophaea maderae* following complete ablation of the pars intercerebralis (II-1-a). The operation was performed on day 0. Usually, animals showed high activity for 1-2 days after operation, then moderate or low activity appeared for a period (about 1 week). After this, activity increased to a very high level without showing any rhythm for 1-2 months; it decreased for a week before the animal's death.

This animal was sacrificed on day 55 and histological sections of its brain showed no neurosecretory cells. The light-dark regime is indicated at the top of the figure (open bar=light, solid bar=dark).

神経分泌細胞は残っていないかった。すなわち、手術は完全に行なわれたものと見なされる。第8図はこの group に属する典型的な1例である。まず LD=12:12 hrs で10日間以上正常なリズムを繰り返すことを確かめてから、PIC を切り除く(0-day)。一般に、手術後1~2日間活動性が手術前に比して高まり、ついで約1週間正常かまたは正常よりも低い活動性がつづく。それ以後、活動性は急速に上昇し、ゴキブリは1日中忙しく動き廻る。勿論終始リズムはない。この状態が約1~2カ月続いて、再び活動力が低下してくると、約1週間以内に死亡する。この図で示したゴキブリは、手術後55日で殺して、脳に神経分泌細胞の無いことを確かめた。

#### II-1-b) Rhythm post-operatively (28例)

一般に手術後2~3日間は低い活動性を示し、その後、正常または突然に高い活動性を示す。手術後一時的に活動力が低下し、リズムが失なわれた後に、明らかなリズムを示しはじめることからみても、先人<sup>6)</sup>の観察は短かすぎ(1日、長くて1週間)、そこから導き出された結果は信頼度に乏しいことが分る。一時的な低活動性の後活動力が正常にもどったもの12匹、高くなったもの9匹、低下したままのもの1匹、低下してから高くなったもの6匹である。

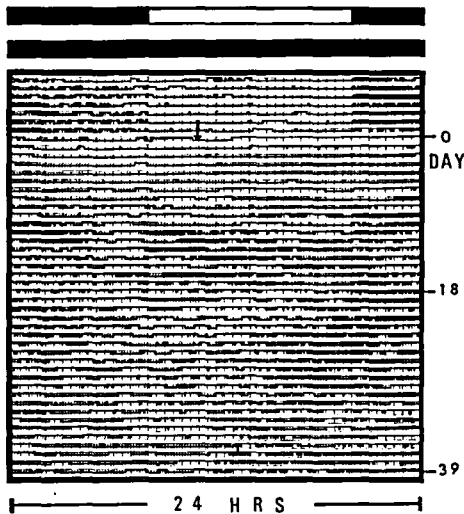


Fig. 9. Biphasic rhythm in *Leucophaea maderae* following recovery from the operation (II-1-b). Within a week after the operation, the animal showed very low levels of activity; then the activity level suddenly increased and a biphasic rhythm, with the onsets of activity clearly phased to dawn and dusk, appeared. From days 19~39, the animal showed a free-running rhythm in DD. The animal was sacrificed for histology on day 40 and neurosecretory cells were found.

リズムが明らかに戻ってくるのは、手術個体によって非常に差があるが、大体2週間以内である。早いものは手術したその日(0-day)にリズムがもどるし、例外的に遅いものとしては3週間(19, 20, 24日)してはじめてリズムが明らかになったものが3例もあった。

リズムを再び取りもどすといっても、typical なものままでのリズムにもどったものばかりでなく、atypical リズムを示したものもあった。それを4つのカテゴリーに分類してみよう。

(i) 一般に typical なものでは、LDで entrain されて後 DD の条件下におくと、free running リズムを示す。4例について、LD下で entrain されてから DD の条件にさらしたところ、3例は free run したが、1例のみは直ちにリズムを全く失ってしまった。

(ii) 5匹は手術後2相のリズム—光の消えた直後と光のついた直後、通常は前者のみを示した(第9図)。

(iii) 通常は活動期は暗黒期間で、しかも、その開始期に強いのに、暗黒期間の終り、すなわち照明期間の直前のみにかたよったものが1例あった。

(iv) これも1例のみであるが、活動の最大が暗黒期間でなく、手術直後から照明期間の方に切りかえられた。

手術後、何等かのリズムが確立されると、虫を殺して脳の組織切片を作って観察した。正常個内では、一般に Br. I の両半球が中央で合する所は、くさび形の切れ込みとしてみられるが、手術個体ではこの部分は PIC 切断のために扁平となっている。また、neural lamella と perilemma の層は再生して続いてはいるが、切断部分では約1/2の厚さになっている。22例中11例において、明らかに神経分泌物質をみたした細胞の存在がみとめられたが、8例では神経分泌細胞を発見することができなかった。残り3例ではその存在が疑わしい。昆虫の脳の神経分泌細胞の存在の有無については、もし神経分泌物質をみたした細胞が認められた場合には、その存在について疑問の余地がないが、分泌物が染められなかった場合、しかも手術によって脳の組織構造に変形を示している場合には、果していくつかの細胞が不完全除去によって残されていたか否かを判定するのは容易でない。この観点にたてば、22例中11例のプラスの証明は相当強力な傍証と見なし得る(第3表)。すなわち、神経分泌細胞が一部でも存在するならば、リズムを回復するのではないかの推測を可能ならしめる。

#### II-2) Effect of actinomycin D on the pars intercerebralis.

PIC の神経分泌細胞が、circadian locomotory

Table 4. Effect of exposing the pars intercerebralis to Actinomycin D on the circadian locomotory rhythm in cockroaches (Group II-2)

Experimental Procedure	No. of Animals	Post-operative Observations			
		Days of Observation	Activity Level	Rhythm	Days until Appearance of Rhythm
Act. D→PIC	7	35(21-57)	Normal 4 Other 3	None	—
Eosin→PIC	5	41(13-61)	Normal 4 Other 1	Normal	3(1-7)
Act. D→5AG	2	43, 48	Normal	Normal	0*

Act. D.: Actinomycin D gel

PIC : Pars intercerebralis

5AG : 5th abdominal ganglion

\* 0 means immediately after implantation

rhythm の control に関与しているとの推定が許されるならば、神経分泌細胞から出されるホルモンがポリペプチッドまたは蛋白質であるから<sup>14,15)</sup>、その合成を止めるような物質をこの部に作用させるならば、虫のリズムは失われるかもしれない。そこで、アクチノマイシン D を 0.02~0.05  $\mu\text{g}$  含む寒天のゲルを乾かし 0.005~0.014  $\text{m}^2$  の薄い短冊型とし、これを間脳部の中心に左右 1 個ずつ挿入してみた (Act. D→PIC)。対照としては、アクチノマイシン D の代りに同じ量のエオシンを含んだものを用い (Eosin→PIC)、他に、同じアクチノマイシン・ゲルを第 5 腹部神経球に挿入した (Act. D→5AG)。結果は第 4 表にみられる通りで、Act. D→PIC の実験区 7 匹は例外なく手術前のリズムを失なったのに比して (第 10 図)、Eosin→PIC の対照区では 5 匹が全部 1 週間以内にリズムを取り戻した (第 11 図)。Act. D→5AG では手術したその日にリズムが現われている。

一般に乾燥したゲルを挿入すると、脳の中でふくれて周囲の組織を破壊するが、PIC の部分的破壊そのものはリズムと関係がないことは、Eosin→PIC の実験区で分る。ところが、Act. D→PIC の 7 匹のうち 3 匹について、手術後約 38 日で生体解剖して観察したところ、PIC 全域、または脳の上半全部が組織崩壊しており、その退化した場所に、大きい肉腫様の色素のある塊りがみられた。なぜアクチノマイシン D 挿入によって脳の組織が癌様化したかは分らないが、ともかくもこのアクチノマイシン D 挿入の実験は所期の目的と違って、単に PIC の chemical ablation (化学的除去) という意味しかもたなくなってしまった。

ここで改めて PIC のもつ役割について考察してみよう。PIC の中央・側方神経細胞群を含む部分を、外

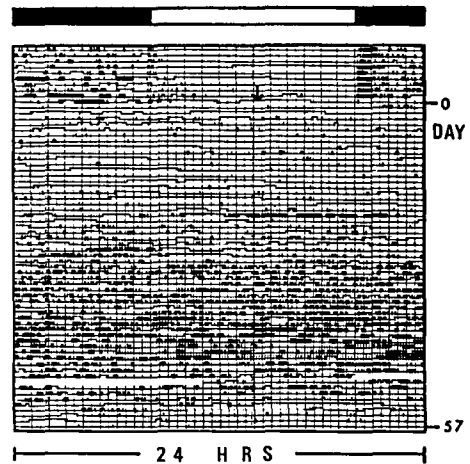


Fig. 10. Effect of actinomycin D on the pars intercerebralis of *Leucophaea maderae* (II-2, Act. D→PIC). Actinomycin D gel was inserted bilaterally into the pars intercerebralis on day 0. The animal showed low activity for 19 days after the operation, then activity increased to a very high level without showing any rhythm for 5 weeks. This activity pattern is similar to that of animals in which the pars intercerebralis was ablated (cf. Fig. 8). The animal died on the 57th day following gel insertion.

科的、または化学的に完全除去すると、ゴキブリはその運動のリズムを失なう。しかも、一般に活動性は上昇する。それゆえ、多分神経分泌細胞が周期的に何等かの物質—しかも活動に対して抑制的な—を分泌して、それによってゴキブリの circadian locomotory rhythm が調整されているのではないかと、この仮説が提案される。この提案には重要な二点が含まれている。

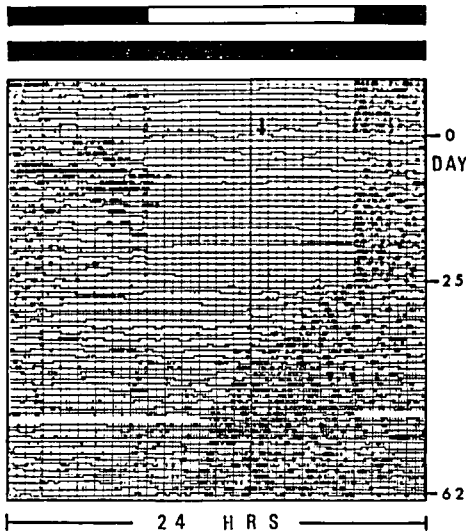


Fig. 11. Effect of eosin control gel on the pars intercerebralis of *Leucophaea maderae* (II-2, Eosin→PIC). Gel containing eosin instead of actinomycin D was inserted bilaterally into the pars intercerebralis on day 0. Within a week after the operation, the animal resumed its pre-operative rhythm and showed a free-running rhythm in DD (on day 25~62). Histological observation confirmed (on day 68) that the brain was normal except that some parts of the pars intercerebralis had been damaged and that none of the implanted gel could be detected.

すなわち、PICの完全除去はリズムの喪失と活動性の上昇を示す点である。しかしながら、この2つの効果は別個のものとして考え得られる。第3表をみていただきたい。リズムを失なった19匹中6匹は終始正常な活動性を保っていた。これは明らかに、PICが活動力とリズムに関して別個の役割をもっていることを示すと共に、他の13匹のものでは活動性が余りにも高かったもので、リズムを確認することができなかったのだという疑義を差しさむ余地をなくしている。この点は後に述べる喉下神経球除去や腹部神経索の或部分の切断に伴ってみられた低活動性と、それゆえにリズムがありながらそれを認められなかったとした推定と非常に異なる。

一方、神経分泌細胞の中央・側方両群を完全除去して、ゴキブリにリズムを失なわせる場合、神経分泌細胞から分泌される種々の重要なホルモン欠除<sup>33)</sup>による生理機能の不調が二次的に影響してリズムの喪失をもたらしたという可能性も考えられるし、同時にキノコ体、mushroom body—神経細胞とその繊維の集合体—の大部分がPIC除去に伴って除去された可能性

が多かったから、その喪失による二次的影響もまた、考慮すべき問題点として残されている。

### III. Optic lobe の役割<sup>22)</sup>

PIC 除去の実験から次の疑問点が生じてくる。① PIC そのものがゴキブリの circadian locomotory rhythm にとって本質的な部分であろうか？ または ② PIC は他の場所にある driving oscillation によってリズムにリズミックに out put を表現するにすぎないのでであろうか？ これら二点の究明のために、脳のいろいろな部分の切断・除去実験を行なった結果、PIC からの内分泌的 out put そのものは autonomously rhythmic でなくて、out put のリズムは、明らかに視葉、optic lobe からの神経連絡に依存しているという結論に達した。以下順を追って実験結果から説明してゆこう。

第12図に種々の手術方式を模式的に示した。詳細については著者の原著<sup>22)</sup>を参照されたい。

#### III-1-a) Simple bisection of the protocerebrum (9例)

Roberts<sup>31)</sup> は Br. I の左右両半球を中央で二分するだけでゴキブリは circadian locomotory rhythm を失なうから、PICの神経分泌細胞がリズムに重大な役割をもつと結論した。PICの中央細胞群から出る神経分泌細胞の神経突起は、脳の左右両半球の中央線のやや下よりで左右交叉して脳から東になって出て、側心体神経 I, Nervi corporis cadiaci I (N. C. C I) となって側心体に入る。側方群の方は、交叉することなく、そのまま、N. C. C II となって側心体に入る。従って二等分によって切断されるのは、中央細胞群から出る神経突起のみで、側方群のものは intact である (Scharrer<sup>32)</sup> 参照)。前述したごとく、PIC 除去の実験では側方の神経分泌細胞の一部のみが残っていてもリズムは回復されたから、Roberts の結論は根拠に乏しい。

(彼は何等組織学的検討を行っていない。しかしながら、彼の観察は他の人々と違って非常に長期間行なわれている点で買うべきものがある)。そこで、彼の観察をたしかめるために、同じような二等分の実験を行なった。

左右両球の二等分のためには、新しいナイフで同じ場所を三度繰り返して切断したところ、9匹中6匹は1週間(2~11日)で正常なリズムを取りもどし、更に DD または LL の条件下で free running リズムを示した(第13図)。3匹のみはリズムを回復しなかった、これらの脳の切片をみると、リズムの回復如何に拘らず、第1脳の2つの半球は完全に融合しており、切断面を探すのが困難であった。ただ、時に切断面と思われる場所に、外からの切れ込みが残っていたり、

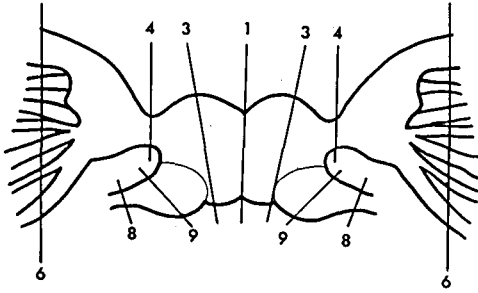


Fig. 12. Above: frontal view (semi-schematic) of the brain to identify the location of the cuts involved in the operations performed in group-III.

Below: schematic representations of the operations performed on the nine experimental series in group-III.

- 1a Midsagittal bisection of the protocerebrum; cut at location 1.
- 1b Same, with addition of a glass-plate separator.
- 2 Excision of right main protocerebral lobe; cuts at location 1 and 4, the latter extended across the boundary of the deutocerebrum (location 9).
- 3a Unilateral section through mid-protocerebrum; cut at location 3(left).
- 3b Bilateral section through mid-protocerebrum; cuts at location 3 on each side.
- 4a Complete section of optic tract on the left side; cut at location 4 (left).
- 4b Same as 4a; with additional incomplete section at location 4 on the right side.
- 4c Same as 4b; but section complete at both locations 4.
- 4c' Same as 4c; but a glass window added above protocerebrum.
- 5 Optic lobes excised from both sides; cuts at locations 4 and 6.
- 6a Section of both optic nerves; cuts at locations 6 on each side.
- 6b Same as 6a; a glass window added above

protocerebrum.

- 7 Section of optic tract (cut location 4) on the left side and section of the optic nerve (cut location 6) on the right side.
- 8 Bilateral section of the sensory and motor antennal nerves; cuts at location 8 on each side.
- 9 Bilateral transection of the deutocerebrum (Br II); cut at location 9 on each side.

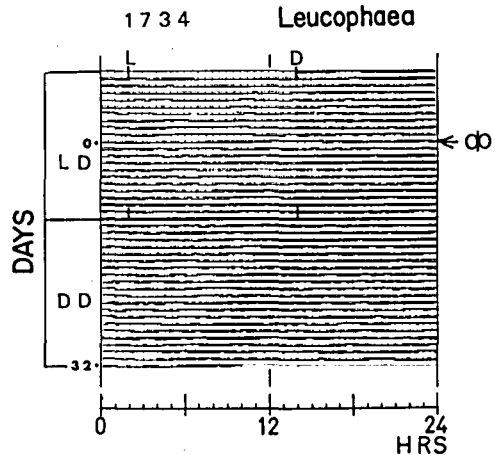


Fig. 13. Persistence of the activity rhythm following the midsagittal bisection of the protocerebrum (on day 0) (III-1a). The rhythm persisted in DD (constant dark). L, light; D, darkness.

また、たくさんの分泌物を含んだ神経分泌細胞とその神経突起を追跡してゆくと、細胞体から出て間もなく、突起中の神経分泌物質が突然見えなくなる場所があったりすると、そこが切断面と推定されたにすぎない。

III-1-b) Bisection of the protocerebrum followed by insertion of glass separating plate (4例)

Roberts<sup>31)</sup> は 1a と同じ実験から 68% (17/25) の arrhythmia を得たのに反して、われわれは単に 33% (3/9) 得たにすぎない。そこで、万一われわれが余りにも鋭利なナイフで切断したために速やかに脳が融合再生した結果、リズムを回復したのではないかという可能性も成り立つ。そこで、切断面にごく薄いカバー・ガラスを径 1 mm × 1 mm (× 0.14 mm の厚さ) 四角に切って、これを縦に挿入して両球の融合を妨げてみた。36日後に解剖してしらべたところ、脳はあたかもガラスの両面にお椀をふせたごとくに押しつけられており、両半球の神経の融合は起こり得ない状態になっている。そこれも拘らず、4 匹中 2 匹のものが手術後それぞれ 6 日と 12 日で正常リズムを回復した (第 14 図上)。

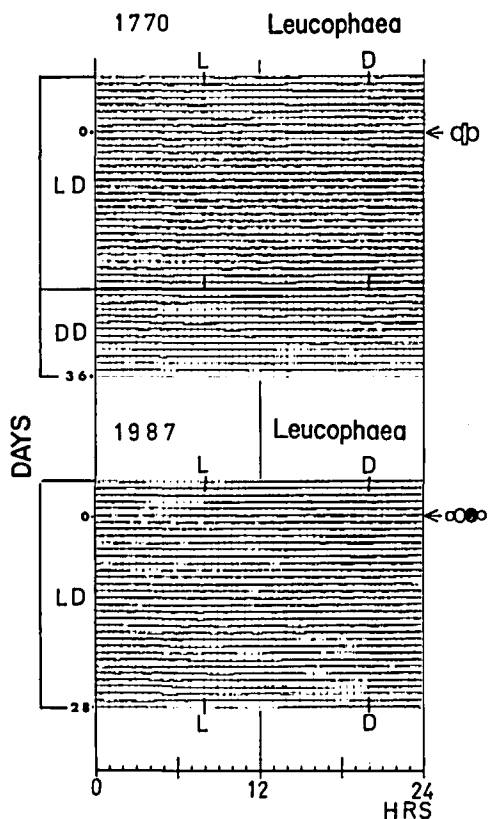


Fig. 14. Animal 1770. A glass plate was inserted into the midsagittal bisection plane on day 0 (III-1b). Activity level increased post-operatively but animal was re-entrained within a week. Rhythm persisted in constant dark (DD) beginning day 23.

Animal 1987. Right main protocerebral lobe was excised (III-2). The normal rhythm resumed within a week with normal activity level.

これらの結果からみても、Robertsの結果と、それからひき出された結論とはともに問題が多いことを指摘しうるのである。しかしながら、1a, 1bの両実験ともに、手術後に異常に活動性が上昇した点はRobertsの結果と等しく、この種の手術によってPICから出されるホルモンの不足がその原因のように思われ、PICの役割についての側面的支持のデータとなったようである。

### III-2) Complete excision of one lobe of the protocerebrum (6例)

一方の側方神経細胞群の一部が残っているのみで、本当にリズムが回復するかどうかを、別の方法で確かめる必要がある。というのは前述したごとく、手術個体の神経分泌細胞の存在の有無を組織学的にしらべ

るのにはいろいろの困難があって、確実を期し難いからである。そこで、左側の第1脳を中央(1aと同じ)とoptic tractの場所で切断し、その間の部分を全部摘出する手術を6匹について行なったところ、4匹が手術後1~12日でentrainするという結果を得た(第14図下)。いうまでもなく、この種の手術は両半球の等分の意味もふくんでいる。この場合も、一般に活動性は正常よりも高い。従って、側方神経分泌細胞群の一侧のみが残っているのみで、リズムの回復には充分であることを立証し得た。

### III-3) Lateral sagittal section of the protocerebrum (10例)

先に(II. 眼の役割のところ)で、LDの光のサイクルは複眼の視神経を通して伝えられ、ゴキブリのもつ時計をre-setすると述べた。もし、PICそのものが時計である—driving oscillator—とするならば、PICとOpNの間の神経を左右とも切断するならば、このゴキブリはLD下でfree runningリズムを示さなければならない。事実、Br. Iの左半球の中心を縦に切断しても、このゴキブリは右半球がintactであるから、entrainされる。ところがわれわれの予期に反して、両球ともに切断すると、ゴキブリは完全にリズムを喪失してしまった。

一方のみの切断の場合には、後に窓型の皮膚を取り除いて脳を観察しても、切断面がどこであったか分らないほどよく脳は再生しているが、両球ともに切断すると、傷口はよく融合しているが、組織学的に見て脳は著しく変形している。この段階では、この変形による第二義的影響によってリズムが失われたという可能性が残されている。






### III-4) Section of the optic tract (26例)

第1脳の中で一番くびれた場所は、main protocerebrumのganglion massと視葉optic lobe(Op. Lと略)とを結ぶoptic tract(Op. Tと略)で、ここは純粹にnerve tractのみから成り立っている。Optic tractを左側のみで切っても(4a-6匹)、左側を完全に、右側を大部分切っても(4b-2匹)、正常な活動レベルで正常なリズムが回復してくる。ところが、左右両側を完全に切断すると(4c)、大部分のもの(18匹中14匹)がリズムを失なう(第15図)。1匹のみ正常なリズムを回復したが、これはむしろ例外であって、残り3匹はfree runningに近い何か不明なリズムを示した。PIC除去の場合と異なり、この実験区では同じようにリズムを失なっても、一般に活動性は正常であった。

### III-5) Complete excision of both optic lobes (6例)

複眼の個眼から出た視神経は視葉の3つのキアズマの何れかでシナプスをつくり、optic tractを経て

Table 5. Effects of various nerve sections of the brain on the circadian locomotory rhythm in cockroaches.

Experimental Group	Operation Procedure	No. of Animals	Post-operative Observations					Animals' State at End of Experiment
			Days of Observation	Activity Level	Rhythm in LD	Days until Reappearance of Rhythm		
III-1 a		9	39(13-84)	Normal 4 Higher 5	Normal 6 Loss 3	7(2-11)	+ 7 - 2	
III-1 b		4	36	Normal 1 Lower 1 Higher 2	Normal 2 Loss 2	6, 12	+ 4	
III-2		6	35(32-36)	Normal 1 Lower 1 Higher 4	Normal 4 Loss 2	8(1-12)	+ 6	
III-3 a		3	16(14-43)	Normal 2 Higher 1	Normal 3	0(0-1)	+ 3	
III-3 b		10*	18(2-36)	Normal 4 Lower 2 Higher 4	Loss 10	—	+ 1 - 9	

Experimental Group and Operation Procedure: see Fig. 2

Activity Level: lower and higher than normal pre-operative activity level

LD: light and darkness 12:12 hours

+: alive

—: dead

\* seven in which the lobes were cut simultaneously, plus the three animals from Group-3a in which the second lobe was cut one to two weeks after the first.

PIC, キノコ体, 中心体, central body, 他側の optic tract 等と連絡している。視神経を両側共切断すると, LD 下で free run するし (I-7), optic tract と視神経の間にある視葉を両側とも除去すると, この動物は例外なしにリズムを失なってしまう (第16図)。この部分の手術は最も確実かつ安全であって, 活動性は低下も上昇もせず何カ月も生きのびる (除去は虫の寿命に何等影響を与えない)。

今, ゴキブリの circadian locomotory rhythm を惹き起こす pace maker が視葉にあると仮定してみると, 今迄述べた実験結果も, 後に補足する部分の結果もよく説明できる。例えば, III-3) や III-4) は単に Op.L → PIC の神経の tract を切断したために Op.L からの情報が, PIC に伝わらなかったために惹起された arrhythmia であると説明がつく。

III-6) Bilateral section of the optic nerves (I-7 として既述の通り) (17例)

III-7) Section of the left optic tract and the right optic nerve (8例)

前述のごとく, 両側の Op.T を切る虫はリズムを失わない (III-4) 両側の Op.N (I-7) を切断すると free run する。Op.L が pace maker であって, その情報を Op.T を経て PIC に送り, PIC から出さ

れる物質がリズムを調整していると仮定してみよう。この系が二重に保証された構造と見なすから (左右相称) 今1匹のゴキブリを LD 下で, 脳の左半球では Op.T を, 右半球では Op.N を切断すれば, この虫はどのような行動のリズムを示すであろうか? 左側では周期的な光の情報は Op.L に伝えられて, 時間の調整が行なわれるが, ここから PIC に行く経路は Op.T で断たれている。他方は光の情報を伝えるべき Op.N が切断されているため, 時間の調整ができない。すでに推察されたと思うが, この虫は理論的には LD 下で free run するはずである。果して2匹の arrhythmia の例外を残して, 8匹中6匹迄が free running rhythm を示し (第17図), 筆者の推論を裏づけてくれた。

III-8) Complete section of both antennal nerves (3例)

中大脳 Deutocerebrum (Br. II) から出る antennal nerve を感覚・運動両神経共に脳からの出口で切断したところ, 3匹中3匹が1週間以内で正常なリズムを回復した (第18図上)。すなわち, 触角にゆく神経はリズムと関係のないことを示している。

III-9) Bilateral section of the deutocerebrum (3例)

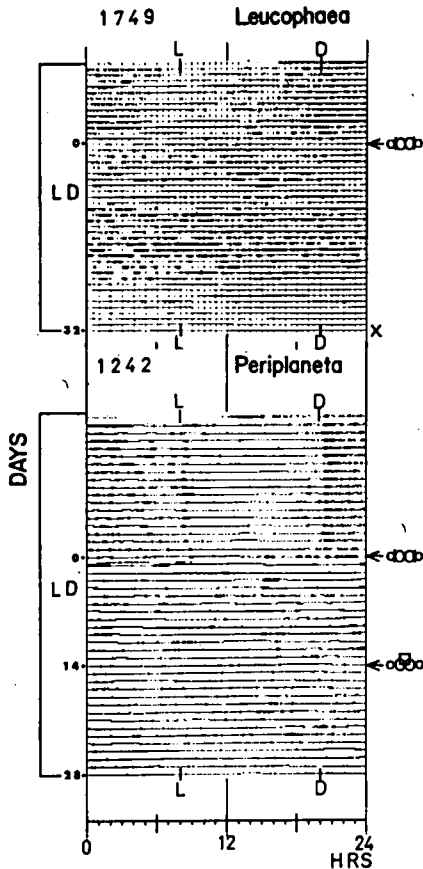


Fig. 15. Loss of the activity rhythm following bilateral section of the optic tract on day 0 (III-4c). Animal 1749 showed no rhythmicity with higher activity level for 3 weeks and then low activity for 10 days and he died on day 32. Animal 1242. 14 days after bilateral section of both optic tract, a glass window was put above the protocerebrum without effect. This animal's activity level was normal (a typical example of this kind of operation).

第II脳の上を第12図の9の線で切断することは、図の上では簡単に見えるが、事実はそうでない。Br. IIはBr. Iの上に広い底辺をもって融合しているために、Br. IIの切断は往々にしてBr. Iに大きい損傷を与える。事実、3匹のゴキブリについて、触角神経終末、antennal nerve endingの集合場所であるglomeruliに対してproximalになる切断を行なったが、1匹は遂にリズムを回復せず死亡し、他の2匹は長期間後にやっと正常リズムを取り戻した(第18図下)。これは明らかにBr. Iのboundaryに広く大きい損傷を与えたためであって、Br. IIそのものの切断による結果とは見なし難い。

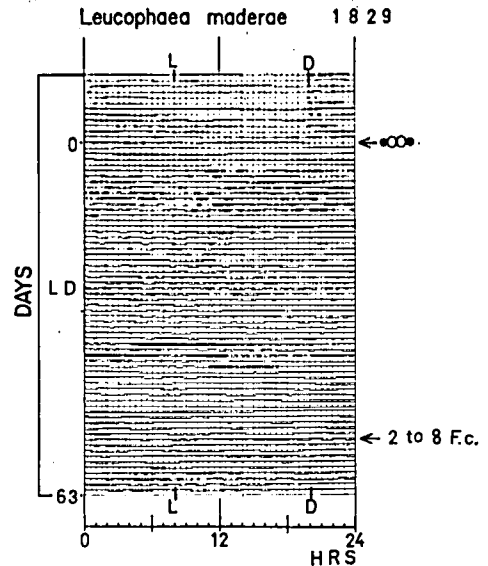


Fig. 16. Typical examples of loss of rhythmicity following bilateral ablation of the optic lobe (III-5).

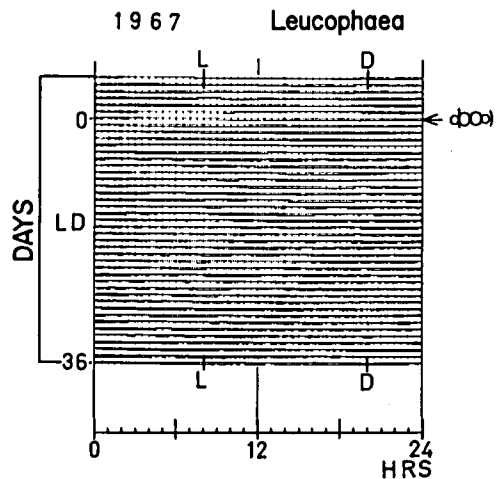








Fig. 17. Freerunning rhythm in LD (light and darkness 12:12 hours) following sections of optic tract in the left lobe and of optic nerve in the right lobe (III-7).

#### III-10) Bilateral section of the circumoesophageal connectives (6例)

これは後大脳、tritocerebrum (Br. III) と喉下神経球をつなぐ神経連絡路である。この食道神経環を6匹で切断したところ(第7表参照)、1匹の例外を除いて全部にリズムが手術後直ちに回復した(第20図, 1957 L)。この結果からみても、PIC から出される情



Table 6. Effects of various nerve sections of the brain on the circadian locomotory rhythm in cockroaches (continued)

Experimental Group	Operation Procedure	No. of Animals	Post-operative Observations				
			Days of Observation	Activity Level	Rhythm in LD	Days until Reappearance of Rhythm	Animals' State at End of Experiment
III-4a		6	12 (8-15)	Normal 5	Normal 5	1 (0-3)	+ 6
III-4b		2	20	Normal 2	Normal 2	8, 13	+ 2
III-4c		18	51 37(4-119)	Normal 10 Lower 3 Higher 3 Special 2	Normal 1 Loss 14 ± 3	6 — 35(26-40)	+11 - 7
III-5		6	55(16-156)	Normal 3 Special 3	Loss 6	—	+ 5 - 1
III-6 (=I-7)		17	94(18-312)	Normal 15 Higher 2	Normal 3 Free Run 14	13(6-19) 6(0-15)	+13 - 4
III-7		8	46(36-45)	Normal 4 Lower 1 Higher 3	Loss 2 Free Run 6	— 13 (3-22)	+ 7 - 1
III-8	cut A. N.	3	23(22-24)	Normal 3	Normal 3	6(6-7)	+ 3
III-9	cut Br. II	3	45(25-47)	Normal Higher	Normal 2 Loss 1	22, 33 —	+ 1 - 2

For diagrams, see Fig. 2  
Rhythm, ±

報は胸部神経節—実際の walking locomotion の生ずる場所—へ神経を通じて送られるのではなく、ホルモンとして伝えられると考えざるを得ない結果となり、すでに予想していたように、PICという部分全体でなく、むしろそこに局在する神経分泌細胞からの分泌物質がリズムの調整物質であると考えざるを得なくなった。

#### IV. Ventral cord の役割<sup>22)</sup>

ここで、昆虫の体内時計の概略を述べた。ここで読者から当然“かの有名な Harker の仮説についてどのように考えているか”という質問が出されるにちがいない。その質問にお答えしたいと思う。

1954年から1960年にかけて、Janet Harker<sup>9-12)</sup> は circadian locomotory rhythm の神経-内分泌制御 neuro-endocrine control に関する仕事を、ゴキブリの1種 *Periplaneta americana* を材料として次々と発表した(総括的には<sup>13)</sup>を見よ)。彼女の仕事の最も重要な結論は“喉下神経球, Suboesophageal ganglion (以下 SG と略)にある神経分泌細胞の神経分泌のサイクルがリズムを内因的に規制していて—第一の時計

一、この時計は更に側心体 Corpora cardiaca からの神経分泌物質の、神経連絡による供給によって保持されている—第二の時計—。しかも、この第二の時計は単眼を通じて光のシグナルと直接反応する”という見事なものである。Harker の仕事の重要点、この時計 (SG) を他のリズムをもたない個体に移植した場合、宿主は移植体の時計の通りのリズムを表わす点にある。かくも重要、かつ、有名な仕事であるにも拘らず、この仕事の追試に成功した人はいない。彼女の行なった手術法は概して難かしいものでなく、多くの人々が同じ種を用いて忠実に追試しても、決して彼女のこのような結果が得られていない。その理由については、同じく多くの点を追試した筆者にとっても、理解に苦しむ点が多いが、敢ていわせていただけるなら、彼女の用いた actograph の不適当さ、intact な個体のもつリズムについての理解の不足(例えば、ゴキブリを LL の条件下におくと arrhythmic になると考え、彼女はこれを arrhythmic host としてしばしば用いている。すでにご存知のように、これは arrhythmic でなく、free running rhythm を示す)とかに起因する点もあると考えられる。詳しくは、かつて

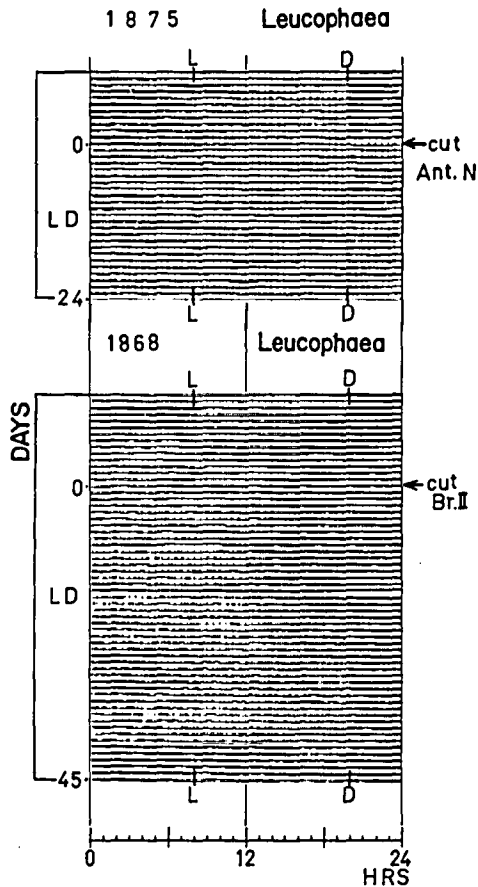


Fig. 18. Animal 1875. Re-development of the activity rhythm following bilateral section of the antennal nerves (III-8). Within a week normal activity rhythm resumed.

Animal 1868. Re-development of the rhythm following bilateral transection of the deutocerebrum (III-9). Rhythm did not resume until 22 days post-operatively (see text).

Harker の下で大学院学生時代を送り、同じ仕事をしてきた John Brady の最近の2つの論文<sup>1,2)</sup>と Roberts<sup>30,31)</sup>と筆者等<sup>18-22)</sup>の論文を参照されたい。これらの人々によって反論された主な点は ① SG の移植によってリズムを転換 transfer することは不可能である。② 側心体を除去してもリズムはつづく、③ 単眼は適当な光受容器でないの三点、すなわち彼女の説の全部である。

さて、Harker の説の可否如何に拘らず、腹部神経索 ventral cord (VC と略) のもつ役割についての究明は必要である。特に SG のもつ役割、また運動に直接関与する胸部神経節 thoracic ganglia のもつ役割について重点をおきながら、いろいろの場所で神経節

摘出、神経索の切断等の実験を行なった。第19図には、頭・頸部の後方部からみた模式図と胸腹部神経系の模式図が示してある。手術は全部腹側から行なった。手術の詳細については、原著<sup>22)</sup>を参照されたい。

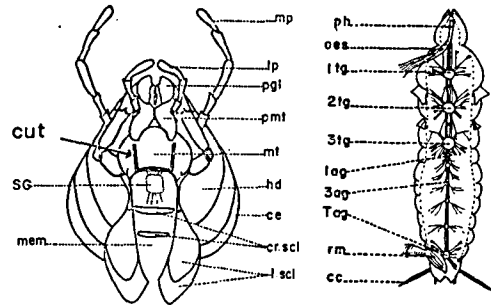


Fig. 19, left.

Posterior view of head and ventral view of neck (Cervix) of *Leucophaea maderae* showing position of U-shaped cut (see text) and of the subesophageal ganglion. mp, maxillary palp; lp, labial palp; p.gl, paraglossa; pmt, prementum; mt, postmentum; hd, head; ce, compound eye; cr.scl, crescent-shaped sclerites; l.scl, lateral sclerites; SG, position of subesophageal ganglion under membrane; men, neck membrane.

Fig. 19, right.

The nervous system in thorax and abdomen of *Periplaneta americana*; re-drawn from Cameron<sup>4)</sup>. ph, pharynx; oes, oesophagus; 1, 2 and 3tg, 1st, 2nd and 3rd thoracic ganglion; 1ag, 1st abdominal ganglion; 3ag, 3rd abdominal ganglion; Tag, terminal abdominal ganglion; rm, rectum; ac, cercus.

#### IV-1) Decapitation (4例)

頸のところで断頭して傷口をパラフィンで封ずる。この際、VC は SG と前胸部神経節、1st thoracic ganglion (1 ThG と略) の間で切断される。*Leucophaea* では極度に活動性が低下する(第20図, 1934L)。断頭個体は肢や翅、胴を動かしてはいるが、外から体をつつかない限り、そのままではほとんど歩き出さない。われわれの用いた actograph は歩行運動の分析のために工夫されたものであるから、歩かなくてはデーターにならない。除脳個体が異常に高い arrhythmic activity を示すのと比べて、断頭個体の活動性の極度の低下は、次に述べるように、VC が SG と 1 ThG 間で切断されたことに起因している。

#### IV-2) Bilateral section of the ventral cords between SG & 1 ThG (8例)

SG の直下で VC を切断すると、断頭個体と同様、ほとんどのものが歩かなくなり、7~32 日間に徐々に

死亡する(第20図, 1957 L, 1958 L). 死亡直前, または直後に解剖してみると, 消化管は完全に空虚であり, 脂肪体も減少している。これらの個体がリズムをもっていたか否かは, 活動が余りにも少ないために判定できない。

#### IV-3) Bilateral section of the ventral cords between 1ThG & 2ThG (6例)

胸部の前(1 ThG)・中(2 ThG)神経節間で VC を切断すると, 結果的に3つのタイプが観察される。すなわち, ④ 活動性が非常に低く(3匹), 大体においてリズムがないか(3%), またはそれが認めにくい(3%), ⑤ 活動性は低いが, 手術後1週間位からリズムがはっきり現われてくる(1匹), ⑥ 正常な活動性と正常なリズムをもち, よく食べ, 長く生きる(2匹; 第20図, 1965 L)。

#### IV-4) Bilateral section of the ventral cords between 2ThG & 3ThG (6例)

VC の切断場所を更に後方, 中・後胸(3 ThG)神経節間で行なうと, IV-3) と同様の結果であるが, ⑥ の type が多くて6匹中4匹を占め, ④ ⑤ 共に1/2にすぎない。

#### IV-5) Bilateral section of the ventral cords between 2AG & 3AG (7例)

第2(2 AG)と第3(3 AG)腹部神経節間で切断した場合には, 例外なく直ちに entrain され, 活動性も正常である。脳の手術後に応々見られた trauma によるリズムや活動の異常は全くみられない(第20図, 1965 L と第21図上)。

#### IV-6) Ablation of the terminal abdominal ganglion (4例)

腹部の最終神経節は或種の節足動物では光受容器ではないかと考えている人もあるが, この神経節の除去によって正常のリズムや活動力が影響されることはない(第21図上)。

#### IV-7) Complete ablation of SG (15例)

食道神経環と SG の直下のニカ所で VC を切断して, SG から口器に分布する神経を切断しながら SG を完全に除去すると(15匹), 7~44 日間のうちにゴキブリは徐々に死亡してゆく。死亡個体は IV-2 の group と同様, 全く食物をとっていないし, またほとんど動かない(第21図下)。これは SG 除去による結果とみるよりは, VC が SG 直下で切断された結果と見なされる。

#### IV-8) Incomplete ablation of SG (6例)

SG の細胞体は, 神経索の他の神経節のそれと同様, VC 上の腹側のふくらみとなっていたため存在しているので, 細胞体の大部分(Harker のいう神経分泌細胞も含めて)を cord を余りいためることなく除去

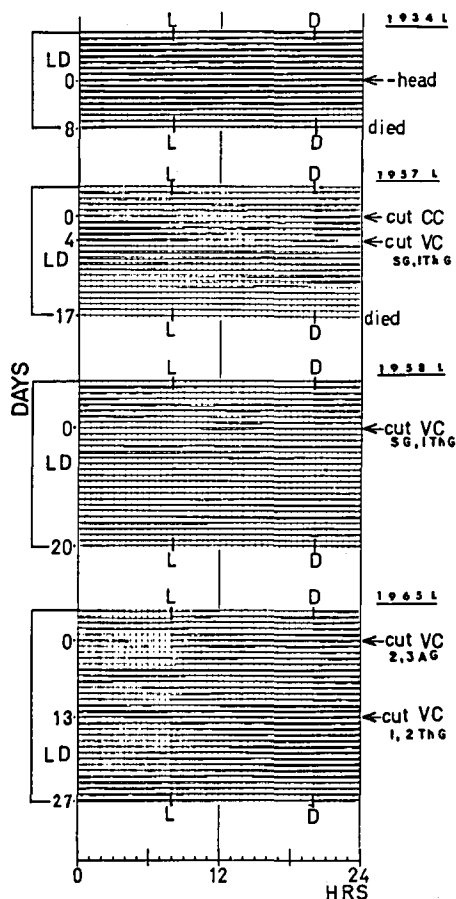


Fig. 20.

1934 L (*Leucophaea*) Loss of activity following decapitation (IV-1).

1957 L Persistence of the rhythm following bilateral section of the circumoesophageal connectives (cc) (III-9). This was one of the two animals (out of 6) in which the nightly activity increased following section of both connectives. On day 4, the ventral cords were cut between the suboesophageal and 1st thoracic ganglia (SG+1 ThG) (IV-2). Animal lost activity and died 2 weeks after the operation.

1958 L Loss of rhythm and activity following bilateral section of the ventral cords between the suboesophageal and 1st thoracic ganglia (SG, 1 ThG) (IV-2). This animal died 22 days after the operation.

1965 L Persistence of rhythm following bilateral section of the ventral cords between 2nd and 3rd abdominal ganglia (2, 3 AG) on day 0 (IV-5) and between 1st and 2nd thoracic ganglia (1, 2 ThG) on day 13 (IV-3).

Table 7. Effects of various nerve sections of the central nervous system on the circadian locomotory rhythm in cockroaches.

Exp. Groups	Experimental Procedure	No. of Animals	Post-operative Observations				
			Days of Observation	Activity Level	Rhythm	Days until Rhythm Redevelops	
IV-1	Headless	4	x 8 (6-11)	almost none	-4	—	
III-10	Cut CC	6	18 (4-38)	low 2 normal 2 high 2	—1 +5	— 1 (0-5)	
IV-2	cut vent. cord between SG & 1ThG	8	x 21 (7-32)	very low 7 low 1	-8	—	
IV-3		1 & 2ThG	6	x and o 24(15-35)	very low 3 low 1 normal 2	-2 ±2 +2	— 5, 12 0
IV-4		2 & 3ThG	6	o 19 (9-28)	very low 1 low 1 normal 4	±2 +4	4, 12 3 (0-9)
IV-5		2 & 3AG	7	o 12 (9-13)	normal 7	+7	0 (0-1)
IV-6	-TAG	4	o 24(17-30)	normal 4	+4	0 (0-1)	
IV-7	-SG comp	15	x 23 (7-44)	very low 11 low 4	-15	—	
IV-8	-SG incomp	6	x 21(17-26)	very low 4 low 1 normal 1	-4 +2	— 9, 8	
IV-9	-SG incomp, then, +SG	4	x 22(11-35)	very low 3 low 1	-3 +1	— 11	

Experimental procedure: CC, circumoesophageal connectives; SG, subesophageal ganglion; vent. cord, ventral cord; 1, 2, 3 ThG, pro-, meso-, meta-thoracic ganglion; 2, 3 TAG, 2nd, 3rd, terminal abdominal ganglion; -, ablation; +, implantation; incomp, incomplete (see text); comp, complete. Post-operative observation: o, most animals lived and x, most animals died at the end of experiment; —, no rhythm; +, some rhythm; ±, doubtful rhythm.

することは不可能でない。このように手術された6個体中4匹迄は活動性が極度に低く、従ってリズムも分らなかったが、2匹は明らかに1週間後から正常のリズムを回復した。6匹中2匹にすぎないとしても、この結果は Harker のいう SG の神経分泌細胞が時計であるとする説と大いに矛盾する。というのは、この2例は SG の神経分泌細胞は除去されており、かつ、側心体との連絡路も絶たれていたからである。

#### IV-9) Incomplete ablation and re-implantation of SG (4例)

8) の group で SG の一部の神経分泌細胞が残っていて、そのために別のものにリズムがもどったのであって、Harker の説は正しいと反ばつされるかもしれない。もしそうなら、SG の細胞体の大部分を除去し、それを直ちに同じ個体に移植(腹部へ)するならば、

全手術個体において直ちにリズムがもどるはずである (Harker は SG 移植直後からリズムをいつでも認めており、このリズムは一週間位つづいてなくなる。これは側心体からの連絡路が絶たれているからと Harker は考えている)。ところが、4匹中1匹のみが11日後に entrain したのみで、他の3個体はリズムを示さなかった。Arrhythmia の率は8)と9)において等しい。リズムの喪失は、SG から出される神経分泌物質の欠乏によるのではなく、SG 除去に伴う VC の機械的損傷に負うものであると考えざるを得ない。

ここで、腹部神経索のもつ役割について考察してみよう。VC の切断箇所が SG の前方 (すなわち、食道神経環の位置)、または第3胸節より後方である場合には、正常な活動性をもつ正常なリズムが手術後から現われてくる。腹部の VC は circadian locomotory

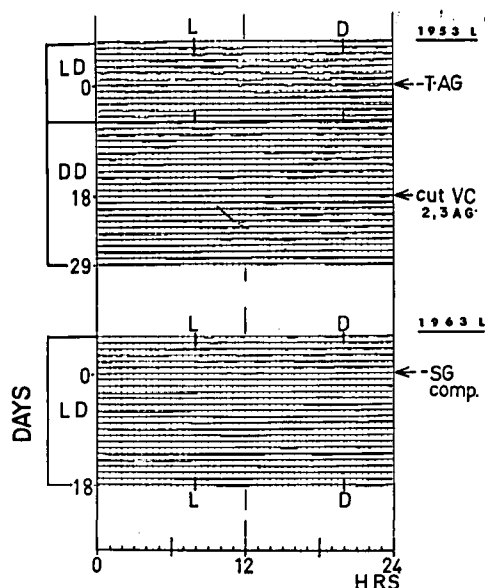


Fig. 21.

**1953 L (*Leucophaea*)** Persistence of the rhythm following ablation of the last abdominal ganglion (—T. AG) (IV-6). On day 6, the animal was put in constant darkness and showed a typical free-running rhythm which continued following the section of the ventral cords between 2nd and 3rd abdominal ganglia (2, 3 AG) (IV-5).

**1963 L** After complete ablation of the suboesophageal ganglion (IV-7) the animal is so inactive that the presence or absence of rhythmicity cannot be resolved. Section of the ventral cord under the suboesophageal ganglion (IV-2) causes the same result.

rhythm と何等関係がない。

VC を SG と 1 ThG の間で切断すると、ほとんど完全に活動が停止する（断頭も SG の完全除去もこの範疇に入る）。この部分で神経索を切ると、神経索は直ちに強く収縮してしまうので、活動の喪失は神経索の収縮による異常な機械的ストレス（またはストレスの欠除）に或いは起因しているかもしれない。しかし、この考えのみで全部の実験例を説明することは困難である。また、活動性は SG と神経連絡している胸部神経節の数が多いほど、高くなっている（IV-3, -4, -5 を比較していただきたい）から、活動の喪失は、肢の運動の協調が失われたことにも一因があるかもしれない。もっと可能性のある仮説は、SG は活動性を刺激する源泉であって、この刺激—緊張—が神経による連絡をもって胸部の神経節に伝えられるとする考え方である。この仮説をもとにして、われわれの観察結果

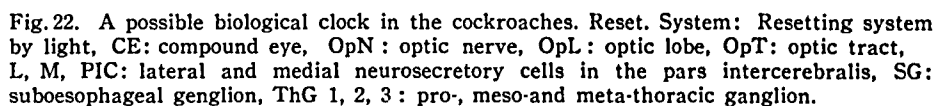
をもう一度検討してみよう。SG と 1 ThG の間での VC の切断によって、ほとんど完全に活動が失われた。断頭も、SG の完全除去も同じカテゴリーにいて理解される。すなわち、SG 直下での神経索の切断によって、胸部神経節は SG からの緊張からときはなされたために、極度に活動力が低下した。SG と連絡している神経節の数が多いほど、活動性が増し、それにつれてリズムを認めるのが容易になるらしい。SG がリズムの driving oscillator と考えるのは根拠に乏しく、種々の実験区に現われた“arrhythmia”は単に活動性が余りにも低かったので、われわれの用いた actograph の条件では、たとえリズムの調整器官 rhythmic modulator の影響があったとしても検定できなかったにすぎない。しかしながら、IV-2 の実験区でリズムが認められなかったことは—SG は intact である—、Harker の“SG は driving oscillator であると同時に、ここから出されるホルモンがリズムを左右する”という仮説を全面的に否定するに足りるものである。もう一度強調することを許されるならば、腹部神経索切断の結果現われたリズムの喪失、loss of rhythmicity は loss of activity に随伴したものであり、SG の胸部神経節に対する緊張保持の作用は hormonal channel でなく neural channel によっていることを強調したい。ともかくも、胸部神経節そのものは活動性において autonomy であるが、その circadian リズムにおいては autonomous ではないと考えられる。

#### V 昆虫の体内時計—外界と連絡のある—<sup>22)</sup>

ここで改めて、ゴキブリの外界と couple した体内時計についてまとめてみよう。

ゴキブリの体内時計は脳、特に前大脳に存在する。それは視葉と脳間部の二部分からなりたっていて、前者の self-sustaining oscillation の out put が後者に神経を通じて伝えられ、その情報に従って後者の分泌が circadian 的周期をもって行なわれ、これが歩行をつかさどる胸部神経節に体液を通じて伝えられる。それゆえ、視葉そのものが driving oscillator であり、これは外界の条件如何にかかわらず、約24時間のリズムをもって活動していると考えられる。この pace-maker は左右1対あって、ここからの情報が PIC に神経を通じて伝えられ、それによって PIC にある神経分泌細胞から或種のホルモンがリズムに分泌され、これが胸部神経節の活動のレベルと運動の周期性を調節する。このホルモンは feed back system によって視葉の driving oscillation のリズムを逆調整するのではなからうか？

光のシグナルは、複眼から視神経 optic nerve を経



これらの仮説を証明する適例は、group III-7 の実験である。この二重保証されたゴキブリの時計を、左側では optic tract の所で切断し、右側では視神経を破壊すると左側では Op. N によって光のシグナルは把握できるが Op. L は PIC にむけて情報を送ることができず、右側では Op. L は PIC に情報を送ることができるが、外側の光のサイクルは Op. L には伝ってこないために時間の正確な調整ができない、かくてこの種の手術を施されたゴキブリは free running circadian rhythmicity を LD の条件下で示したのである。

- 1) Protocerebrum の脳間部を除去すると、ゴキブリは rhythm を失なう。しかも24時間中活動が活発になる。
- 2) 脳間部にある median と lateral neurosecretory cells group の一部でも残っている場合にはリズムが再生する。
- 3) Actinomycin D の gel を脳間部に挿入すると、rhythm がなくなるが、Eosin gel なら正常である。

- 4) 頭全体（口器を除いて）を厚いベイントで覆うと、ゴリブリは free running を LD の条件下で行なう。
- 5) Ocelli を外科的に除去しても、リズムは normal である。
- 6) Optic nerves を両方の複眼の ommatidia と optic lobe の間で切断すると、LD の条件下で “free running” となる。
- 7) 胸部神経節は肢を動かすのに関係する神経節であるが、それ自身はリズムと関係がない。
- 8) 腹部神経節はリズムと関係しない。
- 9) 喉下神経球 (Suboesophageal ganglion) は activity level を neural channel でもって control している。ただし、ここから出される神経分泌物質は関係がない。
- 10) 第2脳 (deutocerebrum) と第3脳 (tritocerebrum) はリズムに関与しない。
- 11) Driving oscillation は protocerebrum (第1脳) にある。
- 12) Optic lobe が driving oscillator となり、ここから情報\*神経を通じて脳間部の神経分泌細胞に伝えられ、神経分泌細胞は “suppressor” をリズムカルにホルモンとして全身に送るものと考えられる。

## 引用文献

- 1) Brady, J.: *J. Exp. Biol.* 47, 153 (1967 a).
- 2) Brady, J.: *J. Exp. Biol.* 47, 165 (1967 b).
- 3) Bünning, E.: *Ber. dtsh. bot. Ges.* 54, 590 (1936).
- 4) Cameron, E.: The cockroach. William Heinemann, Medical Books Ltd., London (1961).
- 4') Cloudsley-Thompson, J. L.: *Ann. Mag. Nat. Hist.* 6, (No. 69), 705 (1953).
- 5) Dupont-Raabe, M.: *Arch. Zool. Exp. Gén.* 94, 61 (1957).
- 6) Eidman, H.: *Z. vergl. Physiol.* 38, 370 (1956).
- 7) Fingerman, M., Lago, A. D. and Lowe, M. E.: *Amer. Mid. Nat.* 59, 58 (1958).
- 8) Halmi, N. S.: *Stain Technology*, 27, 61 (1952).
- 9) Harker, J. E.: *J. Exp. Biol.* 33, 224 (1956).
- 10) Harker, J. E.: *J. Exp. Biol.* 35, 251 (1958).
- 11) Harker, J. E.: *J. Exp. Biol.* 37, 154 (1960 a).
- 12) Harker, J. E.: *J. Exp. Biol.* 37, 164 (1960 b).
- 13) Harker, J. E.: The physiology of diurnal rhythms. Cambridge Press (1964).
- 14) Ichikawa, M. and Ishizaki, H.: *Nature*, 198, 308 (1963).
- 15) Ishizaki, H. and Ichikawa, M.: *Biol. Bull. Wood's Hole*, 133, 355 (1967).
- 16) Klug, N.: *Naturwiss.* 45, 141 (1958).
- 17) Lees, A. D.: *J. Exp. Biol.* 41, 119 (1964).
- 18) Mothes, G.: *Zool. Jahrb. Physiol.* 69, 113 (1960).
- 19) Nishiitsutsuji-Uwo, J. and Pittendrigh, C. S.: *J. Insect Physiol.* 13, 851 (1967 a).
- 20) Nishiitsutsuji-Uwo, J., Petropulos, S. F. and Pittendrigh, C. S.: *Biol. Bull. Wood's Hole*, 133, 679 (1967 b).
- 21) Nishiitsutsuji-Uwo, J. and Pittendrigh, C. S.: *Z. vergl. Physiol.* 58, 1 (1968 a).
- 22) Nishiitsutsuji-Uwo, J. and Pittendrigh, C. S.: *Z. vergl. Physiol.* 58, 14 (1968 b).
- 23) Özbas, S. and Hodgson, E. S.: *Proc. Nat. Acad. Sci.* 44, 825 (1958).
- 24) Pittendrigh, C. S.: In: Science and the Sixties. U.S. Air Force Office of Scientific Research, Cloudcroft Symposium, 96 (1966).
- 25) Pittendrigh, C. S. and Minis, D. H.: *American Nat.* 58, 261 (1964).
- 26) Rensing, L.: *Science*, 144, 1586 (1964).
- 27) Rensing, L.: *Z. Zellforsch.* 74, 539 (1966).
- 28) Roberts, S. K., deF.: *J. Cell. Comp. Physiol.* 55, 99 (1960).
- 29) Roberts, S. K., deF.: *J. Cell. Comp. Physiol.* 59, 175 (1962).
- 30) Roberts, S. K., deF.: *Science*, 148, 958 (1965).
- 31) Roberts, S. K., deF.: *J. Cell. Physiol.* 67, 473 (1966).
- 32) Scharrer, B.: *Biol. Bull. Wood's Hole* 102, 261 (1952).
- 33) Van der Kloot, W.: Neurosecretion in insect. In: Annual Review of Entomology (Steinhaus and Smith, eds.) 5, 35 (1960).

## Summary

1. Paint over the entire head (except mouth appendages) causes cockroaches to "free-run" in 24 hour light/dark cycles (LD 12:12): the paint, therefore, blocks the normal pathway of light signals which otherwise would entrain the rhythm.

2. Surgical removal of both ocelli does not interfere with the action of light cycles in entraining the rhythm: ocelli not a necessary pathway for light signals.

3. Bilateral section of the optic nerves between the optic lobe and the base of ommatidia causes the animals to "free-run" in LD 12:12, even though the ocelli and ocellar nerves were left intact. The compound eyes are therefore the pathway for entraining light signals. The ocelli are not only necessary, they are not sufficient.

4. We found no evidence that the thoracic ganglia which effect locomotory movements are themselves autonomously (circadian) rhythmic in their activity.

5. The abdominal ganglia play no role in effecting the rhythmicity of the thoracic ganglia, and hence, of locomotion.

6. We found positive evidence that the suboesophageal ganglion does not control the locomotory rhythm by a rhythmic secretion of a hormonal agent. It does, on the other hand, control activity level by a neural channel.

7. The evidence is strong that the driving oscillation is in the brain, in fact in the protocerebrum.

8. Insertion of a gel containing actinomycin D into the pars intercerebralis induced ar-

rhythmicity in the animal. However, when gel containing eosin instead of actinomycin D was inserted into the pars intercerebralis, rhythm generated postoperatively.

9. Ablation of the region of the pars intercerebralis of the brain induced arrhythmicity of locomotory activity in the animal, only when both lateral and medial neurosecretory cells were completely ablated. Evidence is presented which demonstrates a relationship between the neurosecretory cells of the pars intercerebralis and the circadian rhythm.

10. The pars intercerebralis suppresses (by a hormonal channel) the level of activity. It also, and separately, mediates locomotory activity by a hormonal channel.

11. The pars intercerebralis can however only cause rhythmicity of locomotion when it

has intact neural connection with the optic lobes.

12. The driving oscillation in the nervous system responsible for the circadian rhythm of locomotory activity is thus, probably, localized in the optic lobes.

13. Animals in which the left optic tract and the right optic nerve have been severed display a free-running rhythm in a 24 hour light/dark cycle: the driving oscillation in the left optic lobe is uncoupled from the pars intercerebralis which it therefore cannot drive; the oscillation in the right optic lobe can drive the pars intercerebralis but is uncoupled from the right compound eyes.

14. A possible biological clock, which consists of the resetting system by light and the endogenous driving system (the driver + the follower) was discussed.

## 抄 録

イエバエのリンデン代謝、とくにペンタクロロシクロヘキセンの未知異性体の検出

Lindane: metabolism to a new isomer of pentachlorocyclohexene. W. T. Reed & A. J. Forgash: *Science* 160, 1232 (1968).

$\gamma$ -PCCH (pentachlorocyclohexene) はイエバエのリンデン代謝によって生じる唯一の異性体と考えられてきた。著者らはリンデンに対する抵抗性イエバエの代謝解毒の役割を再調査するために、リンデンのヘキサン可溶物への代謝について研究した。

アセトンにとかしたリンデンの亜致死量をイエバエ(♀)の背面に投与、22°C、4時間後ヘキサン浸漬、アセトンと芒硝を加えて磨砕、遠沈で固形物除去、アセトンを上清から除き、残渣をヘキサンにとかし、活性フロリシカラムにかけて極性不純物を除去、得られた溶出物を GLC にかける。その結果、リンデン  $\gamma$ -PCCH のほかに A, B, C, D のピークを得た。無処理のイエバエからはこれらのピークは検出されなかった。またイエバエを磨砕したのちリンデンを加え、これを抽出しても  $\gamma$ -PCCH あるいは物質 A のピークは検出できない。さらに生きているイエバエに  $\gamma$ -PCCH を注射しても A をつくり出さない。このことから物質 A はイエバエのリンデン代謝の第1次生成物であることを推定し得る。

リンデンを投与したとき、抵抗性イエバエは物質 A

を有機溶媒可溶物の5%ふくむが、感受性イエバエは1%以下の量しか含まない。著者らは物質 A を  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\eta$  の5種の hexachlorocyclohexane のアルカリ脱塩酸によって合成し得なかった。それゆえ、この代謝物の同定には物質 A をそのまま用いた。すなわち約1000匹の強抵抗性イエバエをリンデンをぬりつけたビーカー中に6時間とじこめた後、アセトン中で磨砕、濾過、アセトン除去、残渣をヘキサン抽出、フロリシカラム通過、A をふくむ分画をさらに第2のカラムで精製、最終的には分取ガスクロで再精製すると白色結晶(室温)を得る。

マススペクトル測定の結果、物質 A のピーク位置は  $\gamma$ -PCCH のそれと同じであったが、ピーク高さに明らかな差があった。GLC では保持時間が  $\gamma$ -PCCH とはなれている事実と考えあわせると、物質 A は  $\gamma$ -PCCH と異性体の関係にあることを推定し得る。しかしその構造はいまだ明らかでない。(上山昭則)

### ネッタイエカによる殺虫剤の代謝 I.

#### DDT の *in vivo* での代謝

Metabolism of Insecticides by *Culex pipiens quinquefasciatus*. I. *In vivo* Metabolism of DDT by Larvae. G. H. S. Hooper. *J. Econ. Entomol.* 61, 490 (1968).

5系統の DDT 感受性系と1系統の抵抗性系のネ